



**University of  
Zurich**<sup>UZH</sup>

**Zurich Open Repository and  
Archive**

University of Zurich  
University Library  
Strickhofstrasse 39  
CH-8057 Zurich  
[www.zora.uzh.ch](http://www.zora.uzh.ch)

---

Year: 2012

---

## **Molekulare Karyotypisierung in der Diagnostik neurokognitiver Entwicklungsstörungen**

Oneda, B ; Rauch, A

**Abstract:** Die Ursache neurokognitiver Entwicklungsstörungen mit Intelligenzminderung stellt eine der häufigsten Fragestellungen in der genetischen Sprechstunde dar. Obwohl mehr als 400 krankheitsverursachende Einzelgendefekte bekannt sind, machen Chromosomenaberrationen derzeit den größten Anteil der bekannten Ursachen aus. Mittels hochauflösender Array-Techniken lassen sich nach Ausschluss des Down-Syndroms bei unselektierten Patienten in 18% der Fälle relevante chromosomale Imbalancen nachweisen, wobei die Aberrationen nur in 4% der Fälle auch primär mikroskopisch sichtbar wären. Mit zunehmender Auflösung steigt jedoch auch die Rate an detektierten Kopienzahl-Normvarianten, welche die Beurteilung der Befunde erschweren können. Indikatoren für krankheitsrelevante Aberrationen sind Aberrationsgröße, Gengehalt und Segregation innerhalb der Familie. Eine Kausalität kann letztlich aber nur dann belegt werden, wenn Vergleichsfälle mit ähnlichem Genotyp und Phänotyp vorliegen

DOI: <https://doi.org/10.1007/s11825-012-0327-y>

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich

ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-156533>

Journal Article

Published Version

Originally published at:

Oneda, B; Rauch, A (2012). Molekulare Karyotypisierung in der Diagnostik neurokognitiver Entwicklungsstörungen. *Medizinische Genetik*, 24(2):94-98.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s11825-012-0327-y>

# Molekulare Karyotypisierung in der Diagnostik neurokognitiver Entwicklungsstörungen

Mit einer Häufigkeit von 2–3% der Bevölkerung stellen neurokognitive Entwicklungsstörungen eine der häufigsten Fragestellungen in der genetischen Sprechstunde dar [1]. Da die hierbei in Frage kommenden Ursachen vielfältig sind, ist die Etablierung einer ätiologischen Diagnose oft schwierig. Das Stellen einer ursächlichen Diagnose ist jedoch elementar wichtig, da nur dann eine klare Aussage über Prognose, zu erwartende Komplikationen, therapeutische Optionen und Wiederholungsrisiko möglich ist. Zudem ist die Nachweisbarkeit eines kausalen genetischen Defekts beim Indexpatienten auch Voraussetzung für eine vorgeburtliche Diagnostik in weiteren Schwangerschaften betroffener Familien. Mit der Entwicklung und breiten Anwendung der molekularen Chromosomenanalysen mittels Mikroarray-Techniken konnte in den letzten Jahren ein signifikanter Fortschritt in der Diagnostik neurokognitiver Entwicklungsstörungen erzielt und viele neue Krankheitsbilder definiert werden. Im Folgenden sollen die diagnostischen Möglichkeiten und damit verbundene Fallstricke erläutert werden.

## Verwendete Methoden

Prinzipiell wird bei der molekularen Chromosomenanalyse Patienten-DNA gegen einen „Array“ genomischer Proben hybridisiert. Bei der klassischen Array-CGH („comparative genomic hybridisation“) wird die fluoreszenzmarkierte Patienten-DNA dabei mit einer andersfarbigen Kontroll-DNA kohybridisiert. Die Ermittlung der Kopienzahlprofile der Chromosomen

erfolgt dann durch den Farbintensitätsvergleich der Test und Kontroll-DNA für jeden genomischen Punkt des Arrays, wobei zur Minimierung von Artefakten häufig 2 Hybridisierungen mit jeweils umgekehrten Farbmuster durchgeführt wurden. Ursprünglich wurden hierbei Bacterial-artificial-chromosome(BAC)-Arrays verwendet. Obwohl die durchschnittliche Größe der verwendeten Klone etwa 100–200 kb betrug, war die effektive mittlere Auflösung selbst bei ganz dicht gepackten Mikroarrays mit 32.000 Klonen auf Imbalancen einer Mindestgröße von etwa 500 kb beschränkt, da zur Verminderung der falsch-positiven Rate i. d. R. mindestens drei benachbarte Signalausschläge nach unten oder oben verlangt wurden [2]. Unsere und andere Arbeitsgruppen etablierten deshalb die „molekulare Karyotypisierung“ mittels genomischer SNP-Arrays, welche ursprünglich für Kopplungs- und Assoziationsstudien entwickelt wurden [3].

Solche SNP-Arrays basieren nicht auf Klonen, sondern auf synthetisch hergestellten Oligonukleotidsequenzen von weniger als 100 Basen. Auf diese SNP-spezifischen Oligonukleotide wird ebenfalls eine Patienten-DNA aufgetragen, jedoch erfolgt der Intensitätsabgleich nicht durch Kohybridisierung mit einer einzelnen Kontroll-DNA im gleichen Experiment, sondern durch einen bioinformatischen Vergleich der Fluoreszenzintensitäten der Patienten-DNA mit den Daten einer größeren Anzahl an Kontrollexperimenten. Da mit Oligonukleotiden eine viel höhere Auflösung erzielt werden kann als mit BAC-basierten Arrays, gibt es mittlerwei-

le auch auf Oligonukleotiden basierende CGH-Arrays sowie auch gemischte Arrays, die zur Vergrößerung der Auflösung zwischen SNP-Markern auch nichtpolymorphe Oligonukleotide zur reinen Kopienzahlbestimmung enthalten [4]. Mit den hierbei bis zu über 2 Mio. verfügbaren Markern pro Array lassen sich genomweite Imbalancen bis auf die Ebene einzelner Gene nachweisen.

Chromosomale Aberrationen, welche sich durch die klassische mikroskopische Karyotypisierung, nicht aber mittels Array-basierter Methoden nachweisen lassen, sind balancierte strukturelle Veränderungen, wie z. B. Inversionen oder Translokationen, welche nicht mit einer Imbalance chromosomalen Materials, d. h. nicht mit einer Kopienzahlveränderung einhergehen. Diese kommen bei etwa 0,6% der untersuchten Patienten vor [1]. Kopienzahlveränderungen des ganzen Chromosomensatzes, also z. B. eine komplette Triploidie oder Tetraploidie (3 bzw. 4 Kopien aller Chromosomen), wie sie allerdings meist nur vorgeburtlich zu beobachten sind, können mit SNP-Arrays und darauf ausgerichteten Auswertalgorithmen nachgewiesen werden, nicht aber mit reinen Oligonukleotid- oder Klonarrays. Im Gegensatz zu BAC- oder Oligonukleotidarrays, erlauben SNP-Arrays auch den Nachweis von uniparentalen Disomien oder von Homozygotieregionen als Hinweis auf autosomal-rezessive Erkrankungen [5].



**Abb. 1** ▲ Beispiel einer nur etwa 4 kb großen De-novo-Deletion (Ausschlag der orange-farbenen Kopienzahlwerte des Patienten nach unten), die 2 Exone des PFAFH1B1-Gens (LIS 1) in 17p13.3 umfasst und mit schwerster geistiger Behinderung und Lissenzephalie einhergeht. Die Hybridisierung erfolgte mit einem Affymetrix-Cytogenetics-Array, der 2,7 Mio. Marker enthält (darunter etwa 400.000 SNP-Marker)

## Detektionsrate relevanter Befunde

Auch wenn die Ursache neurokognitiver Entwicklungsstörungen bei der Mehrzahl der Patienten heute noch ungeklärt bleibt, ist doch i. d. R. eine genetische Ursache anzunehmen, da sich in nur 1–2% der Fälle klare Hinweise auf eine exogene Schädigung ergeben [1]. Die häufigste Ursache für neurokognitive Entwicklungsstörungen stellt nach wie vor die Trisomie 21 dar, welche etwa für 7–9% der Patienten mit Intelligenzminderung verantwortlich ist [1]. Andere numerische Chromosomenaberrationen oder segmentale Aneusomien betreffen etwa 3–5% der Fälle und bei 0,6% liegen balancierte strukturelle Aberrationen wie Translokationen oder Inversionen vor [0,5% zytogenetisch sichtbar; 0,1% mittels Subtelomer-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) detektierbar], welche an einem oder mehreren Bruchpunkten ein krankheitsverursachendes Gen in seiner Funktion be-

einträchtigen. Klinisch gut erkennbare Mikrodeletionssyndrome liegen bei etwa 5% der Patienten vor (v. a. DiGeorge-Syndrom, Williams-Beuren-Syndrom) und bei etwa 0,3% kann nach klinischem Verdacht eine uniparentale Disomie nachgewiesen werden (v. a. Prader-Willi-Syndrom, Angelman-Syndrom). Monogene Ursachen lassen sich nach klinischem Verdacht derzeit bei etwa 5–10% der Patienten nachweisen, sodass ohne den Einsatz von Screeningmethoden 2/3 der Fälle ungelöst bleiben [1].

Durch die Verwendung Array-basierter Methoden zum ungezielten genomweiten Nachweis von Mikroaberrationen bzw. Kopienzahlvarianten lässt sich ein signifikanter Anteil der ansonsten ungeklärten Fälle von Patienten mit neurokognitiven Entwicklungsstörungen klären. Das Ausmaß der dabei erzielten Detektionsrate ist abhängig von den Voruntersuchungen bei den Patienten, der Auswahl der Patienten und der Auflösung der verwendeten Array-Technik. Hochstenbach et al. [6] erstellten kürzlich eine umfangreiche Übersicht über 50 publizierte Studien zur Detektionsrate von Array-Analysen. Bei unselektierten Patienten mit unauffälligem mikroskopischem Karyotyp zeigte diese Übersichtsarbeit eine Detektionsrate von 10–14%. Hierbei erreichten Studien mit Oligonukleotidarrays mit mittlerem Probenabstand von 30–70 kb eine Detektionsrate von relevanten Befunden von etwa 10% und SNP-Arrays mit mittlerem Probenabstand von 6–12 kb eine Detektionsrate von etwa 14%. Der nichtlineare Anstieg der Detektionsrate mit der höheren

Auflösung erklärt sich dadurch, dass die Wahrscheinlichkeit der pathologischen Relevanz mit der Größe der Aberration korreliert. So ist die Mehrzahl der pathologischen Aberrationen größer als 1 Mb, während die meisten benignen Kopienzahlpolymorphismen kleiner als 100 kb sind. Hierbei ist aber zu beachten, dass im Einzelfall die Größe allein kein zuverlässiger Parameter für die Krankheitsrelevanz einer Chromosomenaberration darstellt. So können auch relativ große, mikroskopisch sichtbare Imbalancen ohne Folgen für die Intelligenz bleiben [7, 8] und umgekehrt sehr kleine Aberrationen eines relevanten Gens mit schwerer neurokognitiver Störung einhergehen (■ Abb. 1). Im Einklang mit der Annahme, dass der Verlust von genetischem Material i. d. R. schwerwiegender ist als ein Zugewinn, machen Deletionen mit 67% den höchsten Anteil der relevanten Aberrationen aus. Duplikationen stellen 21% der Aberrationen dar und unbalancierte Translokationen 7% [6].

## Unterscheidung zwischen Aberrationen und Normvarianten

Als Indikator für eine mögliche pathologische Bedeutung nachgewiesener Aberrationen gilt neben der Größe und dem Gengehalt insbesondere auch die *De-novo*-Entstehung [9]. Dies unter der Annahme, dass bei gesunden Eltern eine krankheitsrelevante chromosomale Imbalance nicht nachweisbar sein sollte. Auch wenn es sich bei der familiären Segregation um den aussagekräftigsten Einzelparameter

Hier steht eine Anzeige.

handelt, muss beachtet werden, dass auch dies keinen zuverlässigen Parameter darstellt. So wurde für mehrere rekurrente Mikroaberrationen wie z. B. in 16p11.2 oder distal in 1q21.1 gezeigt, dass deren Penetranz vermindert ist, diese Aberrationen jedoch in Patientenkollektiven signifikant häufiger als in Kontrollpopulationen vorkommen. Aber auch bei seltenen Aberrationen haben wir mehrfach teilweise bis zu 5 Mb große Deletionen bei gesunden Eltern von Indexpatienten nachweisen können. Die genaue Nachuntersuchung der entsprechenden Eltern ergab dann bei manchen, dass diese zwar ein normales Leben führen, im Vergleich zu ihren chromosomal unauffälligen Verwandten jedoch einen deutlich niedrigeren Bildungsstand aufwiesen. Auch ein unerkanntes Mosaik einer Aberration mit normalen Zellen beim gesunden Eltern-Teil kann die Krankheitsrelevanz einer Aberration verschleiern.

Ferner zu bedenken sind bei vererbten Aberrationen die Möglichkeit eines Imprinting-Effekts, d. h., dass die pathologische Wirkung davon abhängig ist, ob die Aberration auf dem maternalen oder paternalen Chromosom vorliegt. Ferner kann eine von einem gesunden Eltern-Teil vererbte Deletion ein rezessives Allel darstellen, das dann gemeinsam mit einer Mutation des verbleibenden Allels beim Kind eine Krankheit auslösen kann [10]. Umgekehrt ist aber auch nicht jede *De-novo*-Aberration automatisch krankheitsverursachend. Vermeesch et al. [11] schildern anschaulich 2 Fälle, in denen *De-novo*-Deletionen von jeweils funktionell sehr gut passenden Kandidatengenen letztlich doch nur zufällige Befunde waren, und nach Reevaluation Punktmutationen in bekannten Krankheitsgenen gefunden werden konnten, die den Phänotyp jeweils komplett erklärten. Bei einer Häufigkeit von etwa 1% von *De-novo*-Aberrationen ab einer Größe von ~30 kb und von 6,5% ab einer Größe von 500 kb in Kontrolltrios ist der Zufallsfaktor nicht zu unterschätzen [12].

Ein sicherer Krankheitsbezug kann deshalb nur hergestellt werden, wenn einerseits Vergleichsfälle mit ähnlichem Phänotyp vorhanden sind und andererseits die Häufigkeit in Kontrollen nicht ähnlich hoch ist. Für die Interpretation

medgen 2012 · 24:94–98 DOI 10.1007/s11825-012-0327-y  
© Springer-Verlag 2012

B. Oneda · A. Rauch

## Molekulare Karyotypisierung in der Diagnostik neurokognitiver Entwicklungsstörungen

### Zusammenfassung

Die Ursache neurokognitiver Entwicklungsstörungen mit Intelligenzminderung stellt eine der häufigsten Fragestellungen in der genetischen Sprechstunde dar. Obwohl mehr als 400 krankheitsverursachende Einzelgen-defekte bekannt sind, machen Chromosomenaberrationen derzeit den größten Anteil der bekannten Ursachen aus. Mittels hochauflösender Array-Techniken lassen sich nach Ausschluss des Down-Syndroms bei unselektionierten Patienten in 18% der Fälle relevante chromosomale Imbalancen nachweisen, wobei die Aberrationen nur in 4% der Fälle auch primär mikroskopisch sichtbar wären. Mit zunehmender Auflösung steigt jedoch auch die Rate an detektierten

Kopienzahl-Normvarianten, welche die Beurteilung der Befunde erschweren können. Indikatoren für krankheitsrelevante Aberrationen sind Aberrationsgröße, Gengehalt und Segregation innerhalb der Familie. Eine Kausalität kann letztlich aber nur dann belegt werden, wenn Vergleichsfälle mit ähnlichem Genotyp und Phänotyp vorliegen.

### Schlüsselwörter

„Comparative genomic hybridization“ · Chromosomenaberrationen · Geistige Behinderung · Neurokognitive Entwicklungsstörungen · Einzelnukleotidpolymorphismen

## Molecular karyotyping in the diagnosis of developmental neurocognitive disorders

### Abstract

Establishing an etiological diagnosis in patients with developmental neurocognitive disorders involving intellectual disability represents a common challenge in clinical genetics. Although more than 400 monogenic diseases with intellectual disability as a trait have been delineated, chromosomal disorders represent the majority of known causes to date. Excluding Down syndrome, high-resolution molecular karyotyping is able to reveal a causative chromosomal imbalance in 18% of unselected patients, while microscopic karyotyping would detect a causal aberration in only 4% of cases. Increasing resolution, however, also increases the num-

ber of benign copy number variants detected, which may hamper the interpretation of results. Indicators of disease associated copy number changes include aberration size, gene content and segregation of the aberration with the phenotype within a family. Ultimately, causality can only be proven when multiple cases with a similar genotype and phenotype have been observed.

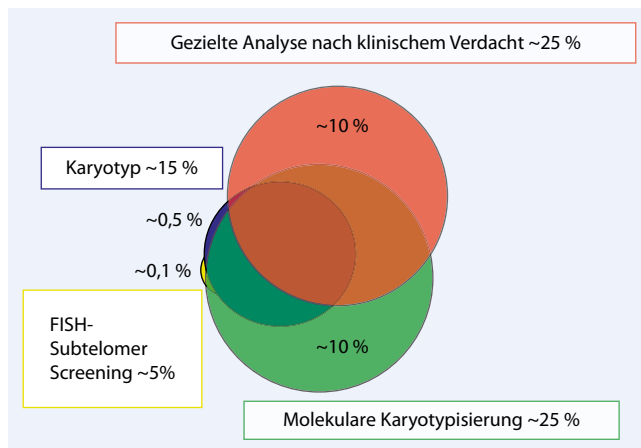
### Keywords

Comparative genomic hybridization · Chromosome aberrations · Intellectual disability · Neurocognitive disorders · Single nucleotide polymorphism

von Mikroarraybefunden sind deshalb neben laborspezifischen Kontrollen verschiedene Datenbanken eine wichtige Hilfe. Die derzeit umfangreichste Datenbank für Normvarianten ist die *Database of Genomic Variants* (DGV; <http://dgvbeta.tcag.ca/dgv/app/home>) und die umfangreichste Datenbank für pathologische Aberrationen die *DECIPHER Database of Chromosomal Imbalances* (<http://decipher.sanger.ac.uk/>). Dabei ist aber zu beachten, dass die DGV auch teilweise rekurrente krankheitsrelevante Aberrationen wie z. B. die Deletion 22q11.2 als „Normvariante“ enthält. Umgekehrt enthält *DECIPHER* neben

Datensätzen mit geprüftermaßen relevanten Aberrationen auch solche mit kompletten Array-Daten einzelner Patienten, so dass auch alle Normvarianten mit erscheinen. Nicht jede angezeigte Variante ist deshalb automatisch für den Phänotyp verantwortlich zu machen und in jedem Einzelfall müssen die Karyotypen der jeweiligen Patienten genau gesichtet werden.

Es sei hier angemerkt, dass nur, nachdem man sich eingeloggt hat, die Kontaktdaten der Ärzte, die einen Patienten in die Datenbank eingestellt haben, sichtbar werden. Dies kann im Einzelfall sehr hilfreich sein, da bei vielen Patienten nur die Ab-



**Abb. 2** ▲ Schematische Darstellung der testspezifischen diagnostischen Power der verschiedenen diagnostischen Vorgehensweisen. Die Prozentzahlen innerhalb der Kästchen entsprechen der maximalen Gesamtdetektionsrate des jeweiligen Ansatzes ohne vorherige Anwendung anderer Testmethoden, die Prozentzahlen in/neben den Kreisen entsprechen den jeweiligen Fällen, die nur durch den jeweiligen Test detektierbar sind. Mittels Subtelomer-FISH sind dies submikroskopische balancierte Translokationen, mittels konventioneller Karyotypisierung balancierte Translokationen und Inversionen, mittels molekularer Karyotypisierung interstitielle submikroskopische und klinisch nicht erkennbare Mikroaberrationen und mittels gezielter Testung nach klinischer Verdachtsdiagnose sind dies monogene Erkrankungen sowie Imprinting-Defekte

erration, nicht aber der Phänotyp eingestellt wurde. Auf E-Mail-Anfrage beim jeweiligen Arzt ist der Phänotyp aber i. d. R. erhältlich. DECIPHER enthält auch eine sehr hilfreiche Zusammenstellung aller rekurrenten Mikroaberrationsregionen („syndromes“). Weitere Phänotyp-Datenbanken sind ECARUCA (<http://um-cecaruca01.extern.umcn.nl:8080/ecaruca/ecaruca.jsp>), welche traditionell auch zytogenetische Aberrationen enthält, und die noch junge ISCA-Datenbank (<https://www.iscaconsortium.org/>), welche in den USA beheimatet ist. Die Informationen der DGV-, DECIPHER- und ISCA-Datenbanken können auch im UCSC-Genomebrowser (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>) eingeblendet werden und so leicht auf einen Blick abgerufen werden.

Bei der Beurteilung einer möglichen Krankheitsrelevanz von Kopienzahlvarianten ist zu beachten, dass auch wenn für bestimmte Regionen z. B. Duplikationen als häufige Polymorphismen beschrieben sind, Deletionen der gleichen Region sehr wohl pathologisch relevant sein können [13]. Betreffen Kopienzahlvarianten bekannte monogene Krankheitsgene, so muss der Sachverhalt ebenfalls sehr genau betrachtet werden. Da nicht jedes Gen dosissensitiv ist, muss eine Deletion oder Duplikation eines Gens nicht

notwendigerweise krankheitsverursachend sein. Kommen z. B. bei einer bekannten monogenen Erkrankung nur Missense-Mutationen vor, liegt möglicherweise ein ganz spezifischer Krankheitsmechanismus vor und Deletionen oder Duplikationen haben keinen oder einen anderen Phänotyp. Werden für dominante Erkrankungen auch Stop- und andere trunkierende Mutationen beobachtet, so kann i. d. R. von Haploinsuffizienz als Pathomechanismus ausgegangen werden und Deletionen sollten dann den gleichen Effekt haben. Zu beachten ist auch, ob allenfalls eine Erkrankung einem rezessiven Erbgang folgt, wobei unabhängig davon, ob eine Deletion vererbt oder *de novo* aufgetreten ist, das verbleibende Allel eine Punktmutation tragen kann.

Noch schwieriger zu beurteilen ist der Effekt von Duplikationen. Betrifft eine Duplikation ein Gen nur teilweise, kann durch Ruptur des Gens auch ein Funktionsverlust resultieren. Liegt die Duplikation gar nicht am regulären Locus, spielt sie meist gar keine Rolle, aber auch Tandemduplikationen müssen nicht unbedingt zur Ruptur des Gens führen. FISH-Analysen oder bruchpunktüberspannende Polymerasekettenreaktionen (PCR)-Analysen können diesbezüglich evtl. weitere Klarheit schaffen.

## Bestimmung des Wiederholungsrisikos

Zur Bestimmung des Wiederholungsrisikos für eine chromosomale Imbalance ist eine quantitative Analyse [also Array- oder Multiplex-ligation-dependent-probe-amplification (MLPA)-Analyse, oder quantitative PCR] bei den Eltern nicht ausreichend, da damit balancierte Veränderungen nicht nachgewiesen werden können. Eine große Studie an 477 scheinbar *de novo* entstandenen interstitiellen Imbalancen ergab durch locuspezifische FISH-Analysen bei den Eltern, dass bei 2,1% der Fälle tatsächlich bei einem Elternteil eine balancierte Insertionstranslokation vorlag. Letzteres geht mit einem Wiederholungsrisiko von 50% für unbalancierte Nachkommen einher, während bei einer echten *De-novo*-Entstehung nur ein Risiko von etwa 1% (empirische Keimzellmosaikwahrscheinlichkeit) anzunehmen wäre. Falls die Größe einer Aberration unterhalb der Detektionsgröße der FISH-Analyse liegt, kann eine Analyse der Eltern auch mit bruchpunktspezifischer PCR-Testung erfolgen, welche auch den Nachweis von niedriggradigen Deletions- oder Duplikationsmosaiken erlaubt [14].

## Mosaik

Verschiedene Studien zeigten, dass die molekulare Karyotypisierung mittels Array-Techniken bei entsprechenden Auswertalgorithmen chromosomale Mosaik besser nachzuweisen vermag als die konventionelle Chromosomenanalyse. Dies mag zunächst erstaunen, werden doch bei den Array-Techniken nicht einzelne Zellen, sondern ein DNA-Gemisch analysiert. Da die konventionelle Chromosomenanalyse eine Zellkultur voraussetzt, wird jedoch angenommen, dass bei einem Mosaik, d. h. bei einem Nebeneinander von chromosomal normalen Zellen und solchen mit chromosomalen Imbalancen, die pathologischen Zellen einen Wachstumsnachteil haben. Die mikroskopisch analysierbaren Metaphasen vermitteln deshalb vermutlich ein in Richtung der normalen Zellpopulation verschobenes Bild.

Durch die Analyse artifizieller Mischverhältnisse konnten Scott et al. [15] zei-



gen, dass schon mit nach heutigem Standard eher relativ niedrig auflösenden 44-K-Oligonukleotid-Arrays Aneuploidien kompletter Chromosomen ab einem Anteil von 10% und segmentale Aneusomien ab einem Anteil von 20–30% der Zellpopulation nachweisbar sind. Aufgrund der noch höheren Sensitivität von SNP-Genotypen für Mosaik wurde für SNP-Arrays sogar die Detektion von Mosaik-Aneuploidien ab 5% postuliert [16]. Conlin et al. [16] konnten unter 2019 Patienten, die eine diagnostische Array-Analyse mittels SNP-Array-Technik erhielten, bei 1% Aneuploidie-Mosaik nachweisen. 76% der Aneuploidien waren dabei mitotisch entstanden. Unter den meiotisch entstandenen Aneuploidien waren drei von fünf von einer uniparentalen Disomie begleitet. Ob wirklich alle, insbesondere niedriggradigen Mosaik dann auch wirklich die jeweilige Krankheitsursache darstellen, ist im Einzelfall ohne klinische Hinweise schwierig zu prüfen.

## Uniparentale Disomien und Homozygotieregionen

Uniparentale Disomien (UPD) als Ursache von neurokognitiven Entwicklungsstörungen wie z. B. die Syndrome Prader-Willi oder Angelman sind seit Langem bekannt. Die Verwendung von SNP-Arrays zur molekularen Karyotypisierung erlaubt neben der Kopienzahlanalyse auch eine Analyse bezüglich längerer Homozygotieregionen. Diese können einerseits ein Hinweis auf eine mehr oder weniger nahe Verwandtschaft der Eltern mit möglicher Homozygotie für eine seltene Mutation sein oder auf eine parentale Isodisomie hindeuten. Eine Studie über SNP-Array-Analysen an 5000 Fällen, die zur molekularen Karyotypisierung eingesandt wurden, ergab Homozygotieregionen >10 Mb limitiert auf ein Chromosom bei 0,7% der Fälle. Bei 11 Fällen konnte eine UPD nachgewiesen bzw. klinisch vermutet werden. Hiervon betrafen 7 Fälle Chromosomen, für die Imprinting-Erkrankungen bekannt sind, darunter auch 3 Fälle von Angelman- oder Prader-Willi-Syndrom. Somit konnte bei insgesamt 0,14% der Fälle eine sicher krankheitsverursachende UPD nachgewiesen werden [17]. Bei 3,2% der Fälle dieser Studie

lag eine signifikant erhöhte Homozygotie von >1% des Genoms im Sinne einer parentalen Verwandtschaft vor. Die Länge der Homozygotieregionen betrug dabei 5–214 Mb (Median 96 Mb). Bei 4 Fällen (0,08% der Gesamtfallzahl) führte dies zum Nachweis einer autosomal-rezessiven Mutation als Krankheitsursache. Unter Einbeziehung der höheren Detektionsrate für Mosaik kommt diese Studie insgesamt auf eine Erhöhung der Detektionsrate für pathologische Aberrationen von 0,56% bei Verwendung von SNP-Arrays im Vergleich zu reinen Oligonukleotidarrays.

## Fazit für die Praxis

Bei Fehlen einer klaren klinischen Verdachtsdiagnose stellt die molekulare Karyotypisierung mittels Oligonukleotid- oder SNP-Arrays derzeit das effektivste diagnostische Werkzeug zur Abklärung neurokognitiver Entwicklungsstörungen dar (Abb. 2). Da die Array-Techniken auch die meisten relevanten mikroskopisch sichtbaren Aberrationen zu detektieren vermögen und diese nach Ausschluss des Down-Syndroms nur etwa 4% der Pathologien darstellen, wird unter zunehmendem Kostendruck vielerorts die molekulare Karyotypisierung als primärer diagnostischer Schritt anstelle einer mikroskopischen Chromosomenanalyse empfohlen [18].

## Korrespondenzadresse

**A. Rauch**  
Institut für Medizinische Genetik  
Universität Zürich  
Schorenstr. 16  
8603 Schwerzenbach-Zürich  
Schweiz  
Anita.rauch@medgen.uzh.ch

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor weist auf folgende Beziehung(en) hin: Drittmittel von Novartis für FiaX-Therapiestudie.

## Literatur

1. Rauch A, Hoyer J, Guth S et al (2006) Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A* 140:2063–2074

2. Vissers LE, Vries BB de, Osoegawa K et al (2003) Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Am J Hum Genet* 73:1261–1270
3. Rauch A, Ruschendorf F, Huang J et al (2004) Molecular karyotyping using an SNP array for genome-wide genotyping. *J Med Genet* 41:916–922
4. Vissers LE, Vries BB de, Veltman JA (2010) Genomic microarrays in mental retardation: from copy number variation to gene, from research to diagnosis. *J Med Genet* 47:289–297
5. de Leeuw N, Hehir-Kwa JY, Simons A et al (2011) SNP array analysis in constitutional and cancer genome diagnostics—copy number variants, genotyping and quality control. *Cytogenet Genome Res* 135:212–221
6. Hochstenbach R, Buizer-Voskamp JE, Vorstman JA, Ophoff RA (2011) Genome arrays for the detection of copy number variations in idiopathic mental retardation, idiopathic generalized epilepsy and neuropsychiatric disorders: lessons for diagnostic workflow and research. *Cytogenet Genome Res* 135:174–202
7. Barber JC (2005) Directly transmitted unbalanced chromosome abnormalities and euchromatic variants. *J Med Genet* 42:609–629
8. Gohring I, Blumlein HM, Hoyer J et al (2008) 6.7 Mb interstitial duplication in chromosome band 11q24.2q25 associated with infertility, minor dysmorphic features and normal psychomotor development. *Eur J Med Genet* 51:666–671
9. Gijsbers AC, Schoumans J, Ruivenkamp CA (2011) Interpretation of array comparative genome hybridization data: a major challenge. *Cytogenet Genome Res* 135:222–227
10. Coman DJ, Gardner RJ (2007) Deletions that reveal recessive genes. *Eur J Hum Genet* 15:1103–1104
11. Vermeesch JR, Balikova I, Schrandt-Stumpel C et al (2011) The causality of de novo copy number variants is overestimated. *Eur J Hum Genet* 19:1112–1113
12. Itsara A, Wu H, Smith JD et al (2010) De novo rates and selection of large copy number variation. *Genome Res* 20:1469–1481
13. Hannes FD, Sharp AJ, Mefford HC et al (2009) Recurrent reciprocal deletions and duplications of 16p13.11: the deletion is a risk factor for MR/MCA while the duplication may be a rare benign variant. *J Med Genet* 46:223–232
14. Campbell IM, Kolodziejka KE, Quach MM et al (2011) TGFBR2 deletion in a 20-month-old female with developmental delay and microcephaly. *Am J Med Genet A* 155A:1442–1447
15. Scott SA, Cohen N, Brandt T et al (2010) Detection of low-level mosaicism and placental mosaicism by oligonucleotide array comparative genomic hybridization. *Genet Med* 12:85–92
16. Conlin LK, Thiel BD, Bonnemant CG et al (2010) Mechanisms of mosaicism, chimerism and uniparental disomy identified by single nucleotide polymorphism array analysis. *Hum Mol Genet* 19:1263–1275
17. Bruno DL, White SM, Ganesamoorthy D et al (2011) Pathogenic aberrations revealed exclusively by single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping data in 5000 samples tested by molecular karyotyping. *J Med Genet* 48:831–839
18. Gijsbers AC, Lew JY, Bosch CA et al (2009) A new diagnostic workflow for patients with mental retardation and/or multiple congenital abnormalities: test arrays first. *Eur J Hum Genet* 17:1394–1402